

Approved For Release STAT
2009/08/31 :
CIA-RDP88-00904R000100130

Dec

Approved For Release
2009/08/31 :
CIA-RDP88-00904R000100130



Вторая Международная конференция
Организации Объединенных Наций
по применению атомной энергии
в мирных целях

A/CONF.15/P/2237
Abstract USSR
ORIGINAL: RUSSIAN

Не подлежит оглашению до официального сообщения на Конференции

25 YEAR RE-REVIEW

О НЕКОТОРЫХ ВОПРОСАХ БИОФИЗИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ

Г.М.Франк, Н.А.Аладжалова, А.Д.Снежко

Исследования в области радиобиологии включают различные направления. Важные задачи решаются на простых модельных объектах - растворах ферментных систем, нуклеопротеидов, высокополимерах органического происхождения. Еще большее развитие получило изучение лучевых реакций на клеточном уровне. Наконец, исследование реакций сложных организмов и, в первую очередь, млекопитающих является центральной и наиболее трудной задачей современной радиобиологии. При рассмотрении этих вопросов мы как-будто встречаемся с непреодолимыми трудностями сопоставления, с одной стороны, радиационно-химических процессов на модельных объектах, а с другой стороны, явлений, возникающих в сложном организме. Препятствием для успешного сопоставления является следующее.

Во-первых, расхождение наблюдаемых явлений во времени. Длительное и постепенное развитие реакций у животного организма и, как правило, непосредственно после облучения наличие изменений на модельных или простых объектах.

Во-вторых, как принято считать, значительное расхождение приблизительно на два порядка доз, вызывающих лучевые реакции в обоих случаях.

В-третьих, при исследовании сложных организмов возникает затруднение в дифференциации между изменениями, с физиологической точки зрения носящими первичный характер, т.е. возникающими непосредственно под действием радиации, и изменениями вторичного порядка в результате общих нарушений регуляций.

В настоящем сообщении делается попытка преодоления перечис-

- 2 -

ленных трудностей путем сравнения некоторых физико-химических изменений в модельных системах с реакциями сложных организмов и наблюдением этих реакций с помощью ряда физических методов.

В настоящее время еще нет возможности дать хоть сколько-нибудь законченную картину в данной области и в нашу задачу входит лишь сделать первые шаги в этом направлении на основе разбора отдельных экспериментальных примеров.

I. Первичные процессы

В нашу задачу не входит анализ современного положения вопроса о первичных механизмах действия радиации, роли при этом радиолиза воды или прямых эффектов воздействия. Мы ограничимся лишь новыми примерами, показывающими, что при облучении простых модельных систем, например белковых растворов, может иметь место развитие эффекта во времени или "консервация" поражения с его проявлением через известный период. Таким образом, и то и другое не есть исключительная "привилегия" сложно организованной живой системы.

В работе Л.Х.Эйдуса, М.Б.Каламкаровой и Г.К.Отаровой (1) изучалась ферментная АТФ-активность миозина, облученного рентгеновыми лучами и введенного после облучения в комплекс с актином, после чего комплекс вновь разрушался и миозин высвобождался.

На рис. 1 представлены результаты этих опытов, где высотой столбиков обозначена активность миозина, принятая за 100% для необлученного белка (M). Такова же и активность необлученного миозина при комплексообразовании его как с фибриллярным, так и с глобулярным актином. После значительной дозы (75 тыс. р) ферментная активность миозина снижалась до 35% исходной величины (M^*). Облучение актомиозинового комплекса показало, что актин защищает миозин от радиационной инактивации ($M^* A^*$).

При облучении миозина в комплексе с фибриллярным актином при упомянутой дозе радиационная инактивация вообще отсутствовала. Активность же миозина, облученного в комплексе с глобулярным актином, составляла около 70% контроля.

Хорошо известен ряд примеров в современной литературе, когда комплексообразование защищает от радиационного повреждения один из компонентов. Это трактуется как перехват радикалов - окислителей защищающим компонентом. Могут рассматриваться и другие возможности, как, например облегчение рекомбинации разорванных свя-

2711-41

- 3 -

зей в более устойчивой системе комплекса.

Однако, если это и имеет место в данном случае, то лишь частично, так как актин оказывается способным в какой-то мере снимать скрытое повреждение, даже когда он введен в комплекс с облученным миозином уже после облучения. Из рис. 1 видно, что ферментная активность облученного миозина с последующим добавлением актина составляет 50-60% исходной величины, в то время как активность того же миозина, но без последующей добавки актина, составляет лишь 35% активности необлученного белка.

Характерно, что процесс инактивации не завершается в течение облучения, а длительно развивается в последствии.

Скрытое повреждение ферментных свойств появляется, нарастая часами, в значительной мере завися от температуры. При температуре ниже 5°C это повреждение находится практически в "законсервированном" состоянии, быстро нарастая при ее повышении. Добавление актина после облучения тормозит это развитие повреждения; как видно из рис. 2, кинетика процесса в последнем случае как бы соответствует снижению температуры инкубации в последствии по сравнению с чистым миозином.

В других исследованиях установлено, что цистеин, добавленный к раствору миозина, не только служит защитным средством в момент облучения, но и предохраняет частично от медленно развивающейся дополнительной инактивации последствии. На рис. 3 [по данным М.Б.Каламкаровой (2)] изображена зависимость атефазной активности миозина от температуры, при которой проходила трехчасовая инкубация после облучения.

Пребывание при температуре 10°C практически не снижает активности, а потому ее уровень может рассматриваться как полученный непосредственно в результате облучения. Облученный миозин в данном случае почти в два раза менее активен необлученного (54%). Несмотря на идущую некоторую потерю активности у контрольной пробы (М) после инкубации при 25° , активность для облученного составляет лишь 22% (M^*) по отношению к необлученному миозину. Облучение в присутствии цистеина не только не дает начального снижения, но и после инкубации уровень оказывается более высоким, чем в контроле (M^*C^*).

Цистеин не только снимает инактивацию радиационного последствия, но и в значительной мере предохраняет от спонтанно идущей потери активности. В данном случае речь идет о развитии про

- 4 -

цесса во времени. В большей мере, чем повышение температуры, облучение приводит к развитию спонтанной инактивации.

Еще рано окончательно судить о механизмах описанных явлений. Однако наличие не только перераспределения энергии (324,5), но и ее миграции, по-видимому, на довольно значительные расстояния, подтвержденное в экспериментах при облучении полимеров (67), оставляет возможность для известной эволюции наших представлений в области механизмов первичного действия.

Не исключено, что радиационное "поражение" белковой молекулы консервируется в форме длительного возбуждения - метастабильного состояния.

Это состояние лишь постепенно разрешается с расходом энергии на разрыв химических связей. Присоединение актина, уже после облучения частично предохраняющее радиационную инактивацию, может быть истолковано с точки зрения возможности миграции энергии в актомиозиновом комплексе. Поэтому миграция энергии может играть известную роль в "усиливающих" механизмах первичной биологической реакции на излучение.

Несомненное значение в усилении биологических эффектов, а также в развитии этих эффектов во времени может иметь и иная категория физико-химических явлений - цепные процессы.

В модельных опытах в чистой липидной фазе их возникновение обнаружено отчетливым образом с хорошо измеряемым большим ионным выходом (8).

В последнее время этот вопрос исследовался Б.Н.Тарусовым (9, 10).

Таким образом, рассмотрение первичных физико-химических процессов позволяет в простых модельных системах наблюдать длительно развивающиеся изменения. Эта же категория явлений может служить основой и для усиливающих эффектов, в особенности, если речь идет о частичной инактивации ферментных систем, обуславливающей нарушение согласованности и нормального баланса обменных процессов. Все сказанное дополняет появляющиеся в последнее время в литературе данные, постепенно ликвидирующие разрыв между эффектами на модельных системах с радиобиологическими реакциями.

II. Параллельные ряды

В современной литературе чрезвычайно популяризируется вопрос о принципиальных различиях чувствительности к облучению *in vivo*

- 5 -

и *in vitro* . Однако часто эксперименты ставятся в несравнимой форме.

Нами ранее исследовались изменения размеров эритроцитов и их гемолитической устойчивости на ранних сроках после облучения

(11). Этот процесс развивается в первые часы после облучения и, как было предположено, является следствием сдвигов химического и физико-химического состояния жидкой среды крови.

Оказалось, что и при облучении *in vitro* нужны не сотни тысяч Р, а только 2000-5000 Р (опыты Гамбурцевой) для того, чтобы изменились размеры и гемолитическая устойчивость облученных эритроцитов. Однако этот эффект далеко не всегда возникает мгновенно, и требуется время для его развития.

В сущности говоря, оба процесса в двух параллельных рядах *in vitro* и *in vivo* идут почти одинаково; только при воздействии *in vitro* необходима всего лишь в 3-5 раз большая доза.

Несколько большая в данном случае чувствительность эритроцитов *in vivo* совсем не говорит о принципиально иных закономерностях процесса. Так, в принятой нами методике (опыты Гамбурцевой) может быть показана возможность "очувствления" как за счет времени инкубации после воздействия, так и за счет применения дополнительных воздействий, в частности гипотонического раствора.

После облучения эритроцитов *in vitro* дозами 3-5 тыс. через разные сроки после облучения отдельные порции подвергались дополнительному воздействию от источника ультрафиолетового света вмонтированного в осветитель микроскопа и работающего на строго постоянном контролируемом режиме. Точно так же, как и в опытах после воздействия рентгеновых лучей *in vivo* (11) время начала и конца гемолиза являлось показателем устойчивости эритроцитов. На рис. 4 изображены подобные гемолитические кривые, соответствующие облученным рентгеновыми лучами пробам крови дозами 5000 Р . Гемолитическая устойчивость определялась через 2 часа после облучения. Контрольная (1) и облученная (2) порции крови инкубировались при комнатной температуре в физиологическом растворе при концентрации поваренной соли 0,85%. Кривые 3 (контрольная) и 4 (облученная) соответствуют аналогичному опыту, но при инкубации в растворе 0,68% хлористого натрия. Из кривых видно, как прогрессирующая гипотония проявляет все в большей и большей мере эффект непосредственного воздействия на эритроциты.

2711-41

- 6 -

В табл. I приведены данные трех пар опытов инкубации при концентрации ~~NaCl~~ 0,85 и 0,68%. В этих случаях концентрация, близкая к изотонической (0,85%), почти не дала различных результатов, в то время как большая гипотония этот эффект отчетливо проявляет. Из таблицы также видно, как эффект потери устойчивости во многих случаях развивается во времени. Цифрами обозначено начало и конец гемолиза в минутах при действии вышеописанного стандартного гемолитического агента для контрольных (к) и опытных порций (о).

Таблица 1

	До облучения		Сразу после облучения		Через 2 часа		Через 4 часа	
	К	О	К	О	К	О	К	О
0,85%	18-26	18-26	18-26	18-26	17-24	20-26	18-25	
0,68%	17-25	17-25	17-24	18-24	16-23	18-27	15-24	
0,85%	17-24	17-24	17-24	17-25	17-24	17-25	18-26	
0,65%	17-24	17-24	17-23	17-24	14-20	16-23	14-21	
0,85%	17-25	17-25	17-25	19-26	19-26	21-28	20-27	
0,65%	17-22	17-22	15-21	16-28	14-21	17-23	16-19	

Физико-химические изменения эритроцитов при облучении *in vitro* могут быть показаны и методом дифрактометрического измерения размеров. На рис. 5 сопоставлены данные по изменению размеров эритроцитов после облучения кролика *in vivo* (сплошная кривая) и облучения порции крови *in vitro*. Изменение размеров клеток контрольной пробы, хранящейся *in vitro*, не существенно. Мы видим, что и в этом случае нет принципиального дозового барьера между этими двумя формами эксперимента. Само собой разумеется, что "инкубация" в условиях целого организма и развития непосредственных воздействий на клетки существенным образом отличается от условий модельного опыта вне организма. Общая интоксикация и нарушение регуляций могут явиться в большей мере "проявителем" местных и непосредственных изменений, которые мы искусственно воспроизводим, например, при выдерживании в гипотоническом растворе.

Весьма любопытно, что заметные изменения при воздействии *in vitro* могут быть обнаружены и в такой сложной системе, как стенка крупных кровеносных сосудов. Ранее было показано, что облучение животного (11) ведет к существенному нарушению эластических свойств крупных кровеносных сосудов. Это было обнаружено и

- 7 -

по увеличению скорости распространения пульсовой волны (Ю.Г.Нефедов) и методом прямого измерения механических параметров стенки аорты облученного кролика (А.А.Поливода). Имеет место при этом снижение растяжимости стенки сосуда, т.е. явление, внешне напоминающее быстро наступающее склерозирование. Как нам удалось показать, этот эффект не связан только с нарушением обменных процессов у облученного животного, а в известной мере воспроизводим и при воздействии на изолированную часть аорты кролика (опыты Л.Г.Вайзе). Полоски, вырезанные из нижней или верхней части аорты кролика (соответственно как контрольная, так и опытная), исследовались по методу регистрации диаграммы растяжения в зависимости от времени или постоянно действующей нагрузки. Фотографически регистрируемые результаты получались в форме, изображенной на рис.6. При этом учитывалась полная деформация, ее быстрая компонента (условно мгновенная) и временная эластическая.

Оказалось, что облучение дозой 5000 Р изолированных сосудов снижает полную деформацию. Этот результат представлен в табл.2, где цифрами в относительных единицах промеров кривых дано сравнение растяжимости (величин полной деформации) контрольных и парных им облученных полосок кровеносных сосудов.

Таблица 2

Растяжимость контрольных полосок аорты		Растяжимость облученных полосок аорты (доза 5000)	Разница в растяжимости
1	71	64	-7
2	53	43	-10
3	68	48	-20
4	62	55	- 7
5	68	64	- 4
6	84	82	- 2
7	53	47	- 6
8	62	56	- 6
9	76	58	-18
10	55	40	-15
11	50	36	-14
Среднее 64		Среднее 54	Среднее -10

- 8 -

Из приведенных данных видно, что не только среднее значение всего ряда экспериментов, но и практически в каждой сравниваемой паре растяжимость облученной полоски меньше контрольной.

Представляет интерес сравнить эти опыты *in vitro* с проведенными по той же методике опытами *in vivo*. В последнем случае измерялись те же параметры полосок кровеносных сосудов кроликов, забитых через разные сроки после облучения. Здесь могло быть проведено лишь сравнение по средним величинам или для наглядности по диаграммам распределения на разные группы по степени растяжимости, как это представлено на рис. 7.

Каждый столбик означает число случаев растяжимости для интервалов, указанных цифрами. Из рисунка видно, что у контрольных сосудов число случаев в интервале растяжимости от 40 до 45 минимально и прогрессивно растет в группах с большей степенью растяжимости.

У сосудов, облученных *in vitro*, наибольшее число случаев падает на самую малую растяжимость. В исследованиях после воздействия *in vivo* в распределении также имеет место сменение в сторону меньшей растяжимости по сравнению с контролем и средние цифры приближаются к данным *in vitro* ввиду малого числа случаев большой растяжимости.

Средние значения из нескольких десятков опытов приведены в табл. 3.

Таблица 3

Полная деформация в относительных цифрах

	Контроль.	Облученные <i>in vitro</i>	Облученные <i>in vivo</i>
Аорта - верхняя часть	67	56	58
Аорта - нижняя часть	60	47	49

При внимательном рассмотрении кривых деформации в зависимости от времени под постоянной нагрузкой обращает на себя внимание, помимо различий в величинах полной деформации, различия угла (см. рис. 6), говорящего о фазе медленной временной деформации. У облученных сосудов этот угол заметно меньше. Типичное различие кривых приведено на рис. 6 для контрольного сосуда и для облученного.

Средние значения в серии поставленных опытов соответствуют для углов - контрольного $6,6^{\circ}$, облученных *in vitro* $4,8^{\circ}$ и

2711-441

- 9 -

облученных *in vivo* 4^0 .

Как известно, временная эластическая деформация связана с медленно совершающимся процессом раскручивания длинных звеньев, полимерных цепей. Уменьшение значений, соответствующих этой фазе процесса, может говорить о радиационном сшивании структуры поперечными связями, наподобие наблюдаемого при облучении модельных высокополимерных систем. Весьма характерно, что это увеличение жесткости структуры кровеносных сосудов не растет заметным образом с увеличением дозы. Однако можно по аналогии с высокополимерами предположить, что в этом случае начинает заметную роль играть второй процесс разрыва химических связей, в частности по хребту самой цепи компенсирующее поперечное сшивание.

Изложенные данные не должны быть поняты как попытка полной идентификации трех категорий явлений действия радиации на высокополимеры, результатов облучения сосудов *in vitro* и, наконец, процессов, совершающихся при облучении в целом живом организме. Речь идет лишь о том, что в сложной системе, учитывая даже все своеобразие, накладываемое этой сложностью, могут быть открыты и проанализированы некоторые более элементарные процессы, исследуемые на модельных объектах.

2711-41
Следует отметить, что поразительное воображение различие доз, необходимых, например, для бактерицидного действия ионизирующей радиации, с одной стороны, и возникновения лучевой гибели высших организмов, с другой - имеет место лишь в совершенно несравнимых условиях эксперимента. И в том и в другом случае обычно говорят о гибели. Однако, имея в виду микроорганизмы (или, например, гемолиз *in vitro*), оценивают дозы, необходимые для немедленного, сразу после воздействия, получения эффекта гибели или деструкции.

Важно, отдавая должное в рассмотрении путей генерализации реакции взаимовлияния отдельных элементов, а также нарушениям нервных и гуморальных регуляций, не затемнять подлинное значение местных, непосредственно в облученных клетках и тканях возникающих изменений и возможности развития этих локальных изменений во времени.

- 10 -

III. Прижизненное изучение реакции млекопитающих

Отыскание способов непосредственного наблюдения, если не первичных, то во всяком случае ранних и начальных изменений, возникающих при действии радиации у целого живого организма, является важной задачей радиобиологии.

Одним из таких приемов оказалась описанная А.Д.Снежко возможность прижизненно, немедленно после облучения, наблюдать нарушение окислительных процессов в ткани головного мозга (12, 13). О возможности использования для этих целей витального полярографического метода, позволяющего непрерывно следить за интенсивностью окислительных процессов у животного, нами было сообщено впервые в 1955 г. (11). Эти факты, казалось, противоречили общим представлениям об относительной радиационной устойчивости как отдельных ферментов дыхательного цикла, так и процесса тканевого дыхания в целом.

Следует отметить, что эта проблема исследовалась на изолированных тканях, культурах простейших и тканевых срезах. В последнее время, однако, появился ряд работ, отчетливо показывающих, что при известных условиях депрессия тканевого дыхания может быть обнаружена и при исследовании потребления кислорода *in vitro* тканевыми срезами (14, 15 и др.).

Было показано также, что облучение при различной локализации воздействия оказалось удобным приемом для дифференциации местных и вторично возникающих нарушений (11, 13). При этом оказалось, что депрессия тканевого дыхания возникает лишь при облучении головы. В новых экспериментах это нашло дальнейшее подтверждение и развитие. Так оказалось, что этот эффект депрессии возникает не только при воздействии на всю голову, но и на маленькие участки размером 0,5x2 см, выделенные с помощью свинцовых диафрагм. Существенное значение имела также новая методика мультиэлектродной регистрации процесса в разных точках - коре и подкорке облучаемого участка, а также на разных расстояниях при введении в экранированную от излучения ткань.

Оказалось, что характерная депрессия окислительных процессов наступает первоначально только в непосредственно облученном маленьком участке. При расположении электродов в коре на некотором расстоянии эта реакция оказывается либо запаздывающей, либо значительно менее выраженной количественно. Другими словами, результат

- II -

воздействия иррадирует в центральной нервной системе чрезвычайно медленно и с большим декрементом.

Эти данные являются прямым доказательством того, что нарушение окислительных процессов есть местно возникающее явление.

На рис. 8 даны кривые полярографического измерения напряжения кислорода в ткани. Увеличение содержания кислорода (подъем кривых) в соответствии с ранее подробно проанализированным (11, 12) свидетельствует о депрессии тканевого дыхания. Мы видим, что депрессия развивается в коре облученного участка (Б-сплошная кривая) и почти не наблюдается на расстоянии 10 мм (Б-пунктирная). Депрессия в подкорке в месте облучения (А-сплошная) хорошо выражена; в стороне от этого участка развивается также отчетливо, но с запозданием (А-пунктирная).

Существенное значение для понимания различия между местными и рефлекторными изменениями имеет эксперимент с повторными воздействиями. В том случае, если при повторном облучении локализации изменена, а именно - после первого воздействия на голову, второй раз производится воздействие на живот и наоборот; это - второе воздействие приводит к таким же закономерным изменениям в напряжении кислорода, как будто оно было первым и до него не было облучения другой локализации.

Несмотря на то, что в первом случае за 6 дней до воздействия облучался живот, повторное облучение, на этот раз локализованное на голову, дает характерную и типичную реакцию местной депрессии окислительных процессов. Аналогичный результат имеет место и в обратном случае, когда превалирует рефлекторно возникающее усиление утилизации кислорода, хотя до этого была вызвана депрессия местным облучением головы.

Несмотря на общую типичную картину реакции центральной нервной системы при изменении локализации воздействия, многоэлектродная техника позволила выявить известные особенности реакции тканевых окислительных процессов, с одной стороны, в коре, с другой - в подкорке.

Наиболее хорошо это различимо на рис. 9 в суммарных данных, построенных как среднее из 12 экспериментов.

Так, при облучении головы час спустя после воздействия увеличение напряжения кислорода отмечается во всех случаях. В последующие часы реакция на облучение в коре и подкорке различна. В подкорке вслед за максимумом наблюдается быстрое падение напряже-

2011-41

- 12 -

ния кислорода. Через 2 часа после облучения напряжение кислорода в подкорке практически равно исходному, в дальнейшем оно иногда снижается и ниже исходного уровня. В коре напряжение кислорода нарастает в течение 2-3 часов. К 3-4 часам наблюдается некоторое снижение, но в ряде опытов вслед за кратковременным снижением отмечается новый максимум, приходящийся на 5-7 час после облучения (см. рис. 9А).

При облучении области живота имеет место иной характер реакции. Через 5-10 минут после конца облучения мы во всех случаях наблюдаем уменьшение напряжения кислорода по сравнению с исходной величиной. Напряжение сохраняется на низком уровне в течение 2-3 часов после облучения, затем отмечается некоторый возврат к норме (см. рис. 9Б).

В подкорке при этой локализации воздействия изменение напряжения кислорода наступает быстрее, чем в коре, быстрее наступает падение напряжения и раньше происходит возврат к норме.

К изложенному следует добавить, что полученные новые данные по изменению окислительных процессов в центральной нервной системе в настоящее время нами подкреплены весьма точным измерением местного мозгового кровообращения. Эти данные показывают, что скорость местного кровотока остается совершенно постоянной и не имеет никакого отношения к изменению содержания свободного кислорода в ткани, трактуемого нами как показатель уровня местных окислительных процессов.

Помимо характерных и непосредственно в исследуемом участке ткани возникающих изменений окислительных процессов, мы обнаружили совершенно новое явление - ритмические колебания основного уровня напряжения кислорода различной частоты и амплитуды. Эти ритмические колебания у теплокровных отмечаются двух порядков: с амплитудой в относительной шкале от 0,01 до 0,03 ма и частотой 12-15 в 1 минуту, и амплитудой от 0,05-0,1 ма с частотой 2-3 в минуту. Они существуют как порознь, так и вместе и тогда во втором случае на колебания с редким ритмом и большой амплитудой накладываются колебания с частым ритмом и небольшой амплитудой. Между этими двумя типами колебаний имеется целый ряд промежуточных форм с менее определенной амплитудой и менее правильным ритмом.

Через 5-10 минут после конца облучения головы ритмические колебания исчезают как в коре, так и в подкорке - наступает полная депрессия. Но уже через 30 минут после конца облучения они

- 13 -

появляются вновь, отличаясь, однако, по форме и частоте. К 3 часам колебания фона исчезают вторично и начинают появляться к 6 часам в виде мелких колебаний с частотой 10-12 в 1 минуту (рис. 10). Закономерность изменения ритмических колебаний в коре и подкорке в результате облучения более или менее одинакова. Но в ряде случаев отмечена как бы инверсия ритмов после облучения (см. рис. 10).

При облучении области живота изменения ритмики основного уровня кислорода в центральной нервной системе носят другой характер. Полной депрессии, характерной при непосредственном воздействии на голову, не наступает, однако через 5-10 минут после конца воздействия, независимо от того, какими были первоначальные ритмы, отмечается только первый тип ритмики колебания с частотой 10-12 в 1 минуту. Через 30 минут колебания частотой 2 в 1 минуту, если они в норме были, восстанавливаются и даже увеличиваются по амплитуде. К 3 часам после облучения вновь остаются только более частые колебания 10-12 в 1 минуту. К 5-6 часам ритм 2-3 в 1 минуту появляется вторично.

Наблюдая поведенческую реакцию кролика в течение первого дня после облучения, можно отметить некоторые параллели с изменением ритмов. Правда, в первые минуты после облучения, когда впервые исчезают ритмы, заметных изменений в поведении животного не наблюдается. Но к 3 часам, когда они исчезают вторично, у кролика наступает шокотипное состояние. Через 6-7 часов с новым появлением ритмов кролик, как правило, уже оправляется. В последнее время в новых условиях эксперимента удалось наблюдать изменение кислородной ритмики во время облучения. Эта первая реакция в значительной степени зависит от функционального состояния животного и характера кислородных ритмов. На фоне повышенной частоты имеет место отчетливое замедление. При отчетливо выраженном двойном типе ритмов - медленном с большой амплитудой и на этом фоне более быстром - наступает депрессия первого типа с сохранением более мелких колебаний второго.

Эти сдвиги могут быть обнаружены очень скоро после начала облучения при дозе несколько сот р.

К изложенному следует добавить, что при полярографическом исследовании уровня содержания кислорода это определение основывается на измерении силы тока в цепи, включающей и ткани животного, куда введен электрод. Однако обнаруженная ритмика регистрируется лишь при наложении электродвижущей силы от 0,4 до 0,8 в, т.е.

- 14 -

в интервале, где сила тока в цепи есть функция концентрации свободного кислорода в ткани. При напряжениях как ниже, так и выше указанного интервала ритмика исчезает.

Последнее является доказательством того, что колебания силы тока не связаны с ритмическим изменением сопротивления и обуславливаются колебаниями в концентрации кислорода, т.е. отражают ритмику окислительных процессов.

Авторы придерживаются той точки зрения, что регистрируемые кислородные колебания есть внешнее выражение ритмической (импульсной) авторегуляции уровня обменных процессов.

Поэтому показательно, что депрессия окислительных процессов после облучения при прямом воздействии на голову сопровождается исчезновением ритмов, т.е. срывом регуляторного механизма.

Большие возможности для прижизненного исследования процессов, возникающих в тканях облученного организма, в частности в нервной ткани, открывает изучение как активных электрических процессов, так и измерение электрических параметров ткани.

Ранее подробно сообщалось о возможности наблюдать быстро наступающее уже во время облучения изменение импеданса коры мозга (11, 16).

В новых экспериментальных материалах удалось сопоставить эти сдвиги электрических параметров с собственной электрической активностью центральной нервной системы, обнаружив при этом новый, ранее неизвестный тип этой активности, названный нами инфрамедленными колебаниями (17, 18) (см. рис. 12).

В некоторых структурах головного мозга, помимо хорошо известной электрической активности импульсного типа, наблюдаются инфрамедленные пульсации потенциала частотой 8 в 1 минуту и амплитудой около 1 мв (17, 18), по форме приближающиеся к синусоидальной. Параметры инфрамедленных колебаний потенциала могут быть изменены путем длительных раздражений рецепторов, воздействием некоторых нейротоксических веществ и гормонов, воздействиями на метаболические процессы (19, 20). Существенным фактором, влияющим на инфрамедленные ритмы в коре мозга, является раздражение области гипоталамуса.

Рентгеновское облучение кролика закономерно меняет параметры инфрамедленных колебаний потенциала коры мозга (21).

В нервной ткани головного мозга и в среде, окружающей нейро-

- 15 -

ны, уже с самого начала облучения происходят сдвиги ионного состояния. Эти процессы первоначально могут быть вызваны как непосредственным действием радиации на ткань мозга, так и рефлекторно, очевидно, вследствие чрезмерного поступления в головной мозг импульсов со стороны возбужденных рецепторов (22) и нарушения обмена, имеющего токсическую и эндокринную природу.

Этот комплекс изменений наступает на ранних стадиях лучевого воздействия и имеет определенную специфику в зависимости от дозы, а частично и локализации воздействия. Изменение электропроводящих свойств начинается, как уже было сказано, еще в процессе облучения, независимо от локализации воздействия, что, по-видимому, говорит о рефлекторном происхождении этих изменений. Локализация сказывается лишь через несколько часов после облучения и отражается на направлении изменения омического сопротивления коры мозга.

На рис. 11 представлены характерные записи инфрамедленных ритмов до и после тотального облучения небольшой дозой (100 р). До облучения (1) инфрамедленные колебания плохо различимы, частота их около 9 циклов в 1 минуту. Сразу через 5-7 минут после облучения (2) (мощность дозы 10 р/мин) появились регулярные инфрамедленные волны с частотой 7 циклов в 1 минуту, частота ритма постепенно увеличивалась, достигнув 10 кол/мин на 10-е сутки. Описанные явления развивались одновременно в фронтальных областях обоих полушарий. Сходная закономерность наблюдалась и при 400 р.

Весьма сходные изменения сверхмедленных ритмов были обнаружены при воздействии рентгеновским излучением только на брюшную область. После облучения живота дозой 100 р наблюдается начальная фаза замедления ритма, впоследствии частота амплитуды и регулярность инфрамедленных колебаний увеличиваются. При облучении живота 500 р начальная фаза замедления ритма сменяется в дальнейшем усилением ритмических колебаний. Причем на 5-7-е сутки после облучения наблюдаются регулярные колебания частотой и амплитудой, значительно превышающими имевшиеся до облучения. Например, если до облучения регистрировался ритм 8 циклов в 1 минуту с амплитудой 0,2 мв, то на 5-е сутки частота увеличивалась до 11-12 циклов в 1 минуту, а амплитуда - до 1,2 мв, т.е. в 10 раз. Эта закономерность сохраняется при облучении брюшной области до 2500 р (рис. 12).

Облучение головы приводит к иным изменениям сверхмедленных

- 16 -

ритмов. В период, следующий за облучением, во всех случаях без исключения наблюдается депрессия инфрамедленных колебаний (рис.13). Причем при меньших дозах депрессия кратковременна и длится лишь несколько часов после облучения, при больших дозах она продолжается до 2 и 3 суток. Пороговыми дозами, при которых нам удалось увидеть эти фазы, по-видимому, является 200-300 р

Сравнивая инфрамедленные колебания с другими показателями электрической активности, необходимо отметить, что изменение энцефалограммы зрительной коры при засветке глаза и сдвиг сопротивления коры мозга в первые двое суток после облучения в общих чертах сходны при разной локализации воздействия. В то же время картина инфрамедленных колебаний характерно различается: при облучении живота ритмы усиливаются сначала по амплитуде, а потом и по частоте, а при облучении головы сначала происходит полная депрессия ритмов, сменяющаяся впоследствии их усилением главным образом по амплитуде.

Весьма любопытная и своеобразная картина возникает при переходе к большим дозам. Так, при воздействии на живот дозой выше 3000 р вместо увеличения частоты ритма наблюдается сильное падение частоты (до 3-4 циклов в 1 минуту) и рост амплитуды (до 2-3 мв). Появление таких гигантских медленных волн характерно также для облучения головы дозами выше 4000 р и для тотального облучения дозами, превышающими 1000 р. Форма колебаний зависит от локализации воздействия.

На изменении импеданса коры мозга при облучении столь большими дозами также сказывается локализация воздействия: при облучении головы происходит сильное падение сопротивления вплоть до смертельного исхода, при облучении живота смерть наступает на фоне сильнейшего роста сопротивления коры мозга. Гистологический контроль свидетельствует о больших органических изменениях в структуре мозга в этих случаях.

После облучения инфрамедленные колебания потенциала обнаруживаются также в области гипоталамуса. Это указывает на вовлечение в реакцию на облучение нейроэндокринных механизмов. Последний в форме генерализованных воздействий влияет на тонус нейронов и физико-химическое состояние коры мозга. Изменение этой активности в сторону усиления при облучении брюшной области указывает на роль рефлекторного механизма, и наоборот, наличие депрессии при облучении головы допускает прямое действие радиации на структуры голов-

2711-41

- 17 -

ного мозга, которое может явиться фактором, усугубляющим лучевое поражение при тотальном облучении.

Необходимо подчеркнуть, и в этом существенное значение сделанных наблюдений, что инфрамедленные колебания потенциала коры мозга, по-видимому, отражают процессы в другой физико-химической системе, чем импульсная активность, так как могут быть изменены независимо (19). Гуморальные воздействия на изолированную по нервным связям, но сохраняющую кровообращение полосу коры мозга изменяют параметры инфрамедленных ритмов (23). Следовательно, инфрамедленные колебания потенциала присущи структуре коры мозга и изменяется со сдвигом ее метаболизма. Этот эффект довольно четко проявляется при воздействиях на холинергическое звено обмена.

IV. Выводы

Мы рассмотрели некоторые особенности действия радиации на простые модели, провели сравнение изменений, возникающих в клетках или тканях *in vivo* и *in vitro* и, наконец, привели ряд примеров прижизненного изучения реакций облученного организма.

Особенностью современного этапа исследований радиобиологических процессов является то, что исчезает, казалось бы, непреодолимый дозовый разрыв между действием на модельные системы и на организм в целом. Для возможностей дальнейшего анализа перспективным является то обстоятельство, что "развитие" реакций и возможность некоторого скрытого периода "законсервированного" поражения свойственно не только сложным живым системам, но обнаруживается и на простых моделях. Возможно, что известную роль при этом (подлинное значение сейчас еще оценить трудно) играют не только чисто химические превращения, но и возможность своеобразных физико-химических состояний длительного возбуждения, миграции энергии, цепных процессов.

Совершая мысленную "проекцию" первичных физико-химических процессов в сложную систему, необходимо учесть, в частности, что помимо высокомолекулярных комплексов, как мы знаем, в последние годы обнаружена удивительная правильность надмолекулярного строения живого.

Однако самым важным является то, что первичные изменения при действии радиации, разыгрывающиеся в этой гетерогенной системе, "расшатывают" не какую-то жесткую статическую конструкцию, а структуру, находящуюся в неравновесном состоянии и непрерывно поддержи-

- 18 -

ваемую или воссоздаваемую интенсивно протекающими химическими процессами. Эта структура, в свою очередь, определяет в силу своей гетерогенности пространственную организацию и закономерное течение химических реакций.

Такая "структурная" точка зрения не отрицает возможности одновременного нарушения ферментных систем за счет непосредственной лучевой инактивации.

Одновременно с этим не исключено в буквальном смысле слова механическое расшатывание структуры - ослабление связей между макромолекулами. Не только тканевые элементы, но и микроструктуры клетки должны обладать минимальной механической прочностью для того, чтобы противостоять разрушающим тенденциям как молекулярного теплового движения, так и броуновской подвижности более крупных структурных частиц.

Рассматривая данные, относящиеся к изучению процессов, совершающихся в тканях облученного животного, мы видим, что изменение локализации воздействия вплоть до облучений маленьких участков ткани, а также использование прижизненных методов наблюдения позволяет в сложном переплетении реакций выделить звенья, непосредственно подверженные влиянию радиации. В приведенных примерах к ним относятся тканевые окислительные процессы и своеобразная ритмическая деятельность как в этих процессах, так и инфрамедленная компонента электрической активности.

Нам думается, что эти данные свидетельствуют также и о том, что, анализируя общую интегральную реакцию организма и отдавая должное значению нарушений нервных и гуморальных регуляций, а также появлению токсического фактора, мы недостаточно оцениваем роль местных изменений в формировании этой интегральной реакции.

Сказанное вовсе не означает, что мы пытаемся нарушение окислительных процессов или своеобразной инфрамедленной электрической ритмики поставить во главу угла первичных изменений, возникающих при действии радиации.

Однако весьма вероятно, что это нарушение представляет собой важное звено начальных процессов.

Представим себе, что сложная "конструкция" в соответствии с перечисленными выше первичными механизмами начинает расшатываться, тем самым нарушая нормальный ход процессов дыхательного цикла. Это нарушение нормального хода дыхания, в свою очередь, приведет

- 19 -

к дезорганизации процессов обмена, поддерживающих сложную динамическую структуру и пространственную организацию ферментных систем митохондрий, усугубляя дальнейшее развитие повреждения. Возникает порочный круг взаимоусиления структурных и обменных нарушений, с рано проявляющейся депрессией тканевого дыхания, естественно обращающей на себя внимание как одно из начальных изменений при действии радиации.

С п и с о к л и т е р а т у р ы

1. Эйдуc Л.Х., Каламкарова М.Б., Отарова Г.К., Биофизика, 1957, 2, вып. 5, 573
2. Каламкарова М.Б., Биофизика, в печати (1958)
3. Эйдуc Л.Х., Кондакова Н.В., Отарова Г.К., Биофизика, 1958, 2, № 3
4. Alexander P., Charlesby A., Radiobiol. Symp. Ed. Back a Alexander London, 1955, 49
5. Burton M., Patrick W., J. Phys. Chem., 1954, 58, 421
6. Никитина Г.С., Багдасарян Х.С. В сб. работ по радиац. химии под ред. Баха Н.А., Изд-во АН СССР, 1955, 183
7. Pollard E.C., Guild W.R., Nitchinson F., Setlow B.B. Progr. in Biophys. a. Bioph. Chem., 1955, 5, 72
8. Charlesby A., Proc. Roy. Soc., 1954, A222, 60
9. Сб. работ Первичные механизмы биологического действия радиации под ред. Тарусова Б.Н., Медгиз, 1957
10. Тарусов Б.Н. В сб. Тр. Всес. научно-технич. совещания по мирному использованию атомной энергии, Изд-во АН СССР, 1958
11. Франк Г.М. В сб. Действие облуч. на организм, Докл. сов. делегации на междунар. конф. по мирн. использованию атомн. энергии в Женеве, Изд-во АН СССР, 1955, 112
12. Снежко А.Д., Биофизика, 1956, 1, 6
13. Снежко А.Д., Биофизика, 1957, 2, 1
14. Barron E.S.G., Biol. eff of extern X and γ radiation Ed Zirkle, 1956, 16
15. Castler W., Armstrong W., Radiation Res., 1956, 5, №2, 189
16. Аладжалова Н.А., Докл. АН СССР, 1954, 96, № 6, 1053
17. Аладжалова Н.А., Биофизика, 1956, 1, вып. 2, 127
18. Аладжалова Н.А. (Aladjalova N.A.), Nature, 1957, 179, 957

74-111-44

- 20 -

19. Аладжалова Н.А., Биофизика, 1958, 3, 4
20. Аладжалова Н.А., Сверхмедленные ритмы в изменениях потенциала коры головного мозга и воздействующие на них факторы. Тезисы доклада на конференции по вопросам электрофизиологии центральной нервной системы, Ленинград, 1957
21. Аладжалова Н.А., Биофизика, 1956, 1, № 7, 642
22. Аладжалова Н.А., Сверхмедленные ритмы в изменениях электрического потенциала коры головного мозга и гипоталамуса при лучевом поражении. Труды научно-технической конференции по применению изотопов и излучений в технике, медицине и сельском хозяйстве. Радиобиология, 1958, 184
23. Аладжалова Н.А., Физиол. ж. СССР, в печати.

НЛ

-21-

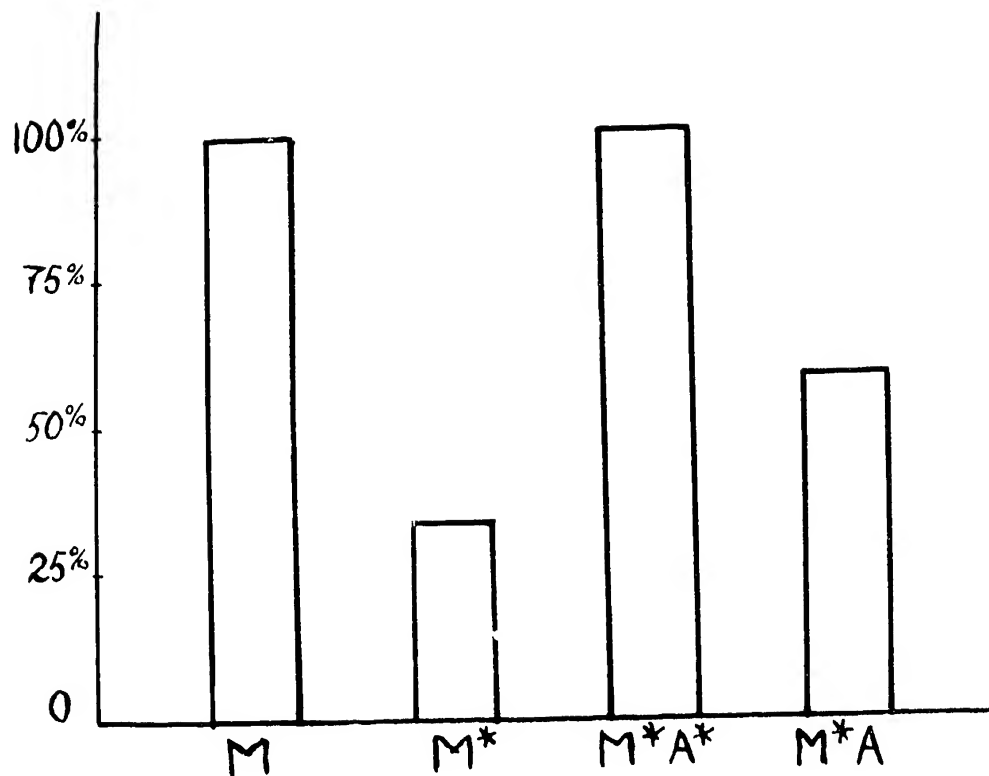
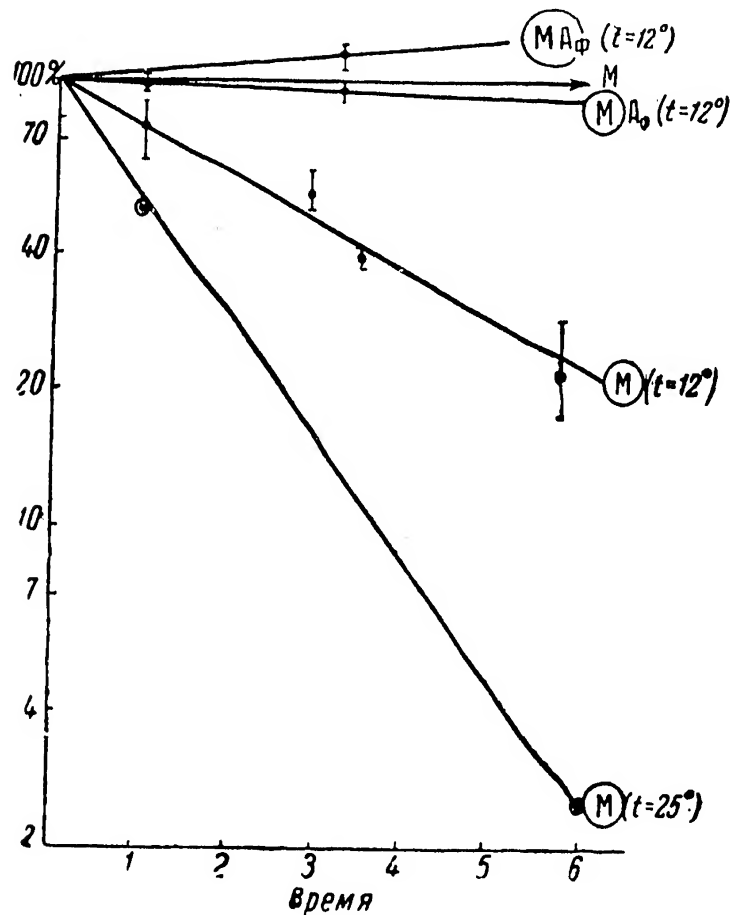


Рис. I. Изменение атефазной активности миозина после облучения: M - контроль, принятый за 100%; M* - после облучения дозой 75 000 p ; M*A* - после облучения комплекса миозина с актином. Снижения активности не наблюдается; M*A - к облученному миозину после воздействия добавлен актин, т.е. условия облучения, как и в случае M. Активность значительно больше.

-22-



2011-41

Рис.2. Изменение активности разных порций миозина в течение времени инкубируемых при температурах 12 и 25°C: М — контрольная порция миозина, активность при выдерживании при температуре 12°C практически не меняется; М* — облученный миозин, одна из порций которого инкубируется при температуре 12°C, а другая — при 25°C. Прогрессирующее снижение активности; М* А — аналогичная порция миозина, к которой после облучения добавлен актин.

-23-

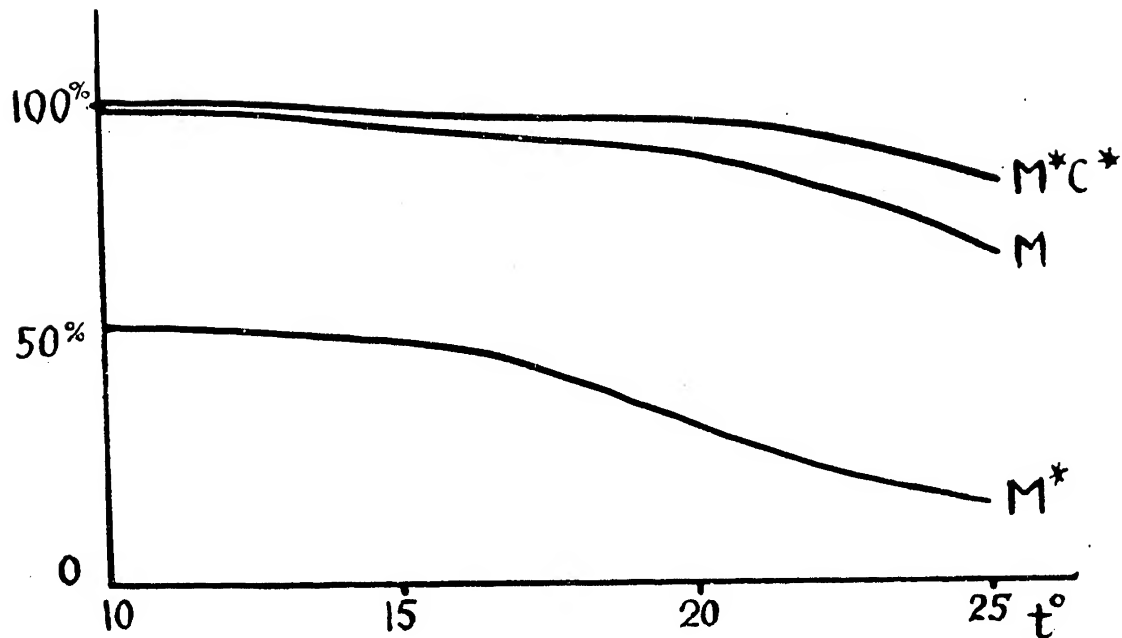


Рис.3. Зависимость активности миозина от трехчасовой инкубации при разных температурах. Активность на графике дана в конце трехчасового периода инкубации:
 M - контрольная порция; M^* - облученная порция;
 M^*C^* - облученная с добавкой цистеина.

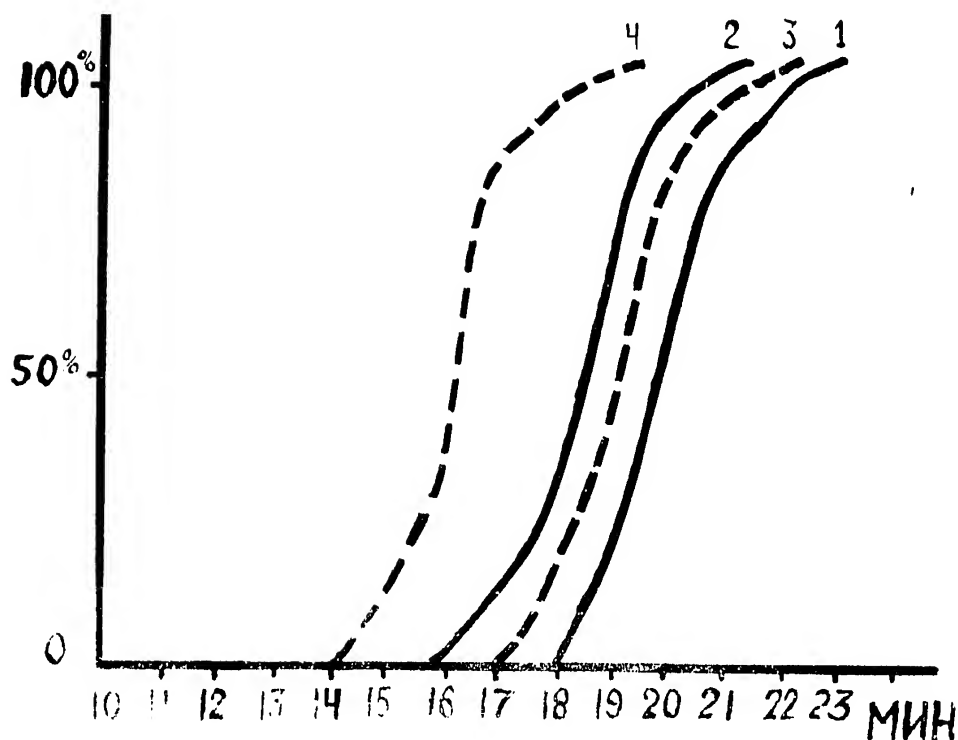


Рис. 4. Кривые гемолиза эритроцитов, облученных рентгеновыми лучами *in vitro* дозой 5000 р. Гемолитическим агентом является стандартный источник ультрафиолетового излучения: 1 - контрольная порция в растворе 0,85% хлористого натрия; 2 - то же после облучения рентгеновыми лучами; 3 - в растворе 0,68% хлористого натрия; 4 - то же после облучения рентгеновыми лучами.

-25-

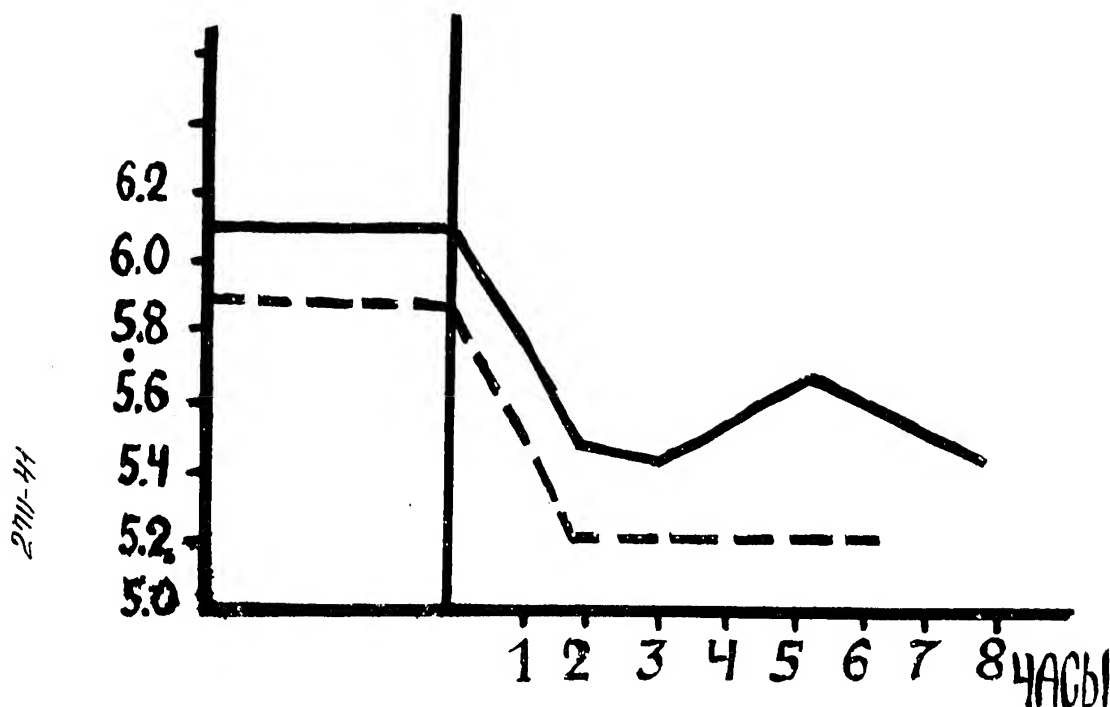


Рис.5. Изменение размеров эритроцитов, определяемое диф-
фрактометрически. Сплошная кривая - эритроциты
после тотального облучения кролика дозой 1000 р .
Пунктирная кривая - эритроциты, облученные *in vitro*
дозой 5000 р .

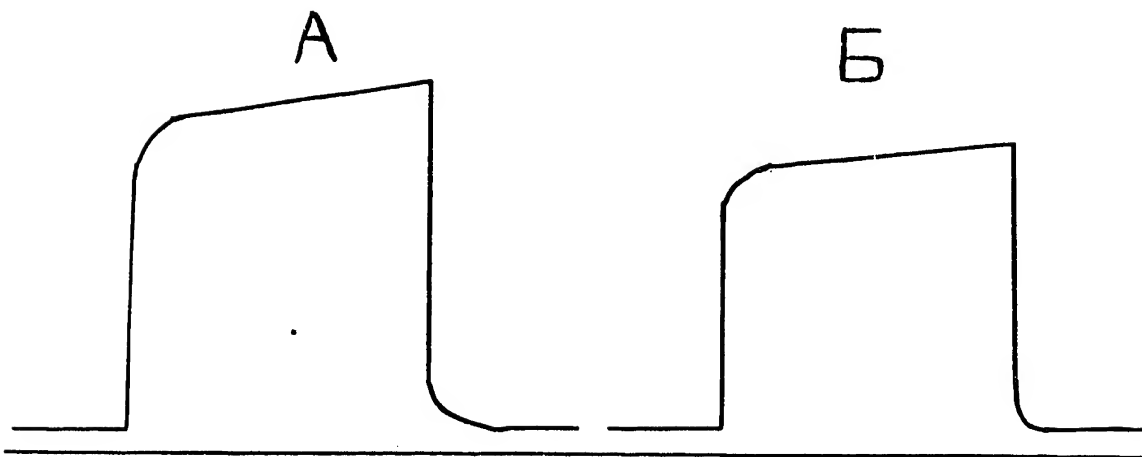


Рис.6. Диаграммы растяжения кровеносных сосудов (полоска стандартного размера и определенной локализации, вырезанная из аорты кролика): А - необлученная полоска аорты; Б - полоска арты после облучения (по средним данным 20 экспериментов).

-27-

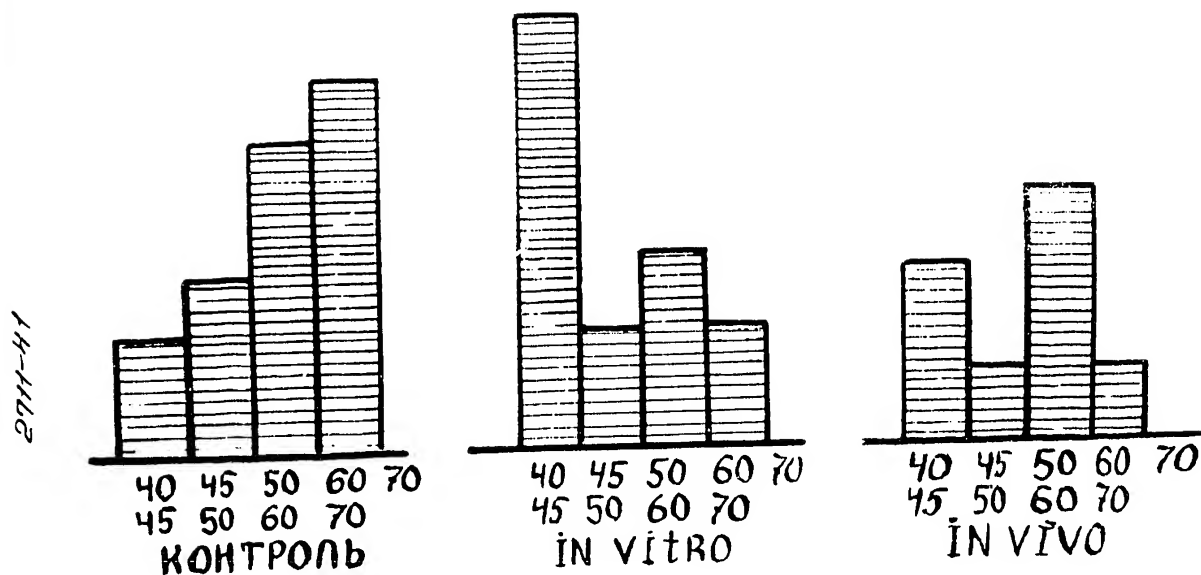


Рис. 7. Диаграммы распределения растяжимости полоски аорты кроликов контрольных, облученных вне организма и после тотального облучения. Высота каждого столбика соответствует числу случаев растяжимости в пределах, указанных внизу цифрами.

-28-

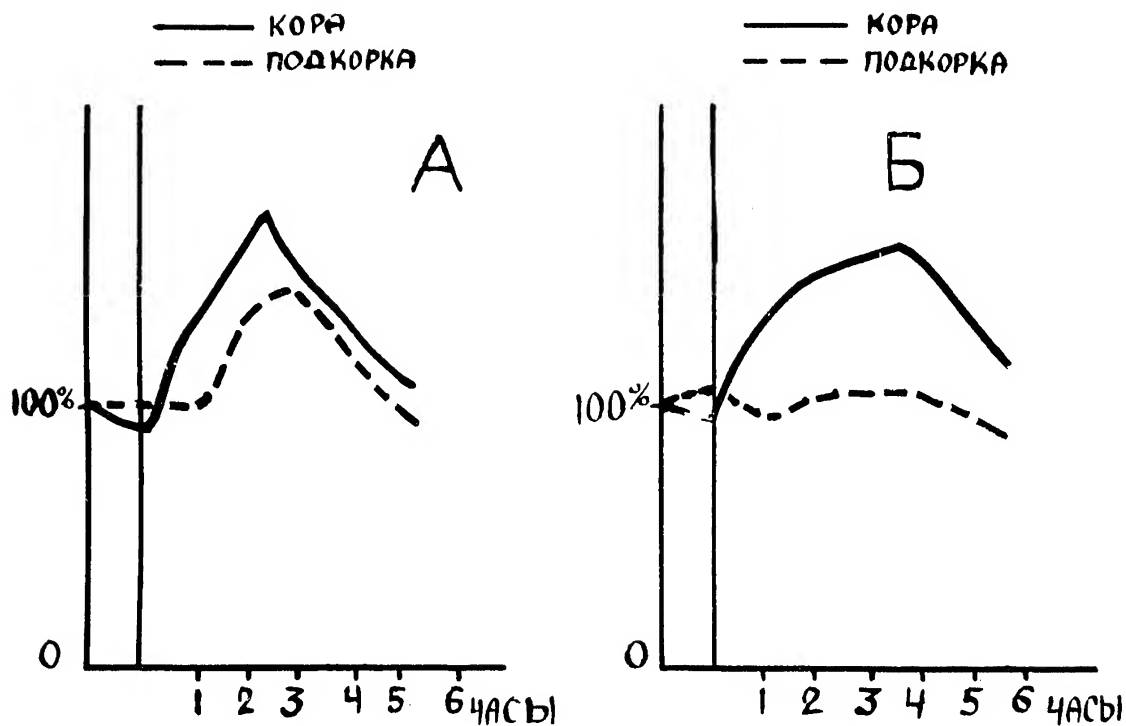


Рис.8. Сравнения изменений утилизаций кислорода в облучаемом участке центральной нервной системы площадью 1 см^2 необлучаемым участком: А - электроды в подкорке (сплошная линия - облучаемый участок, пунктирная - соседний необлучаемый); Б - электроды в коре сплошная линия - облучаемый участок, пунктирная - соседний защищенный.

-29-

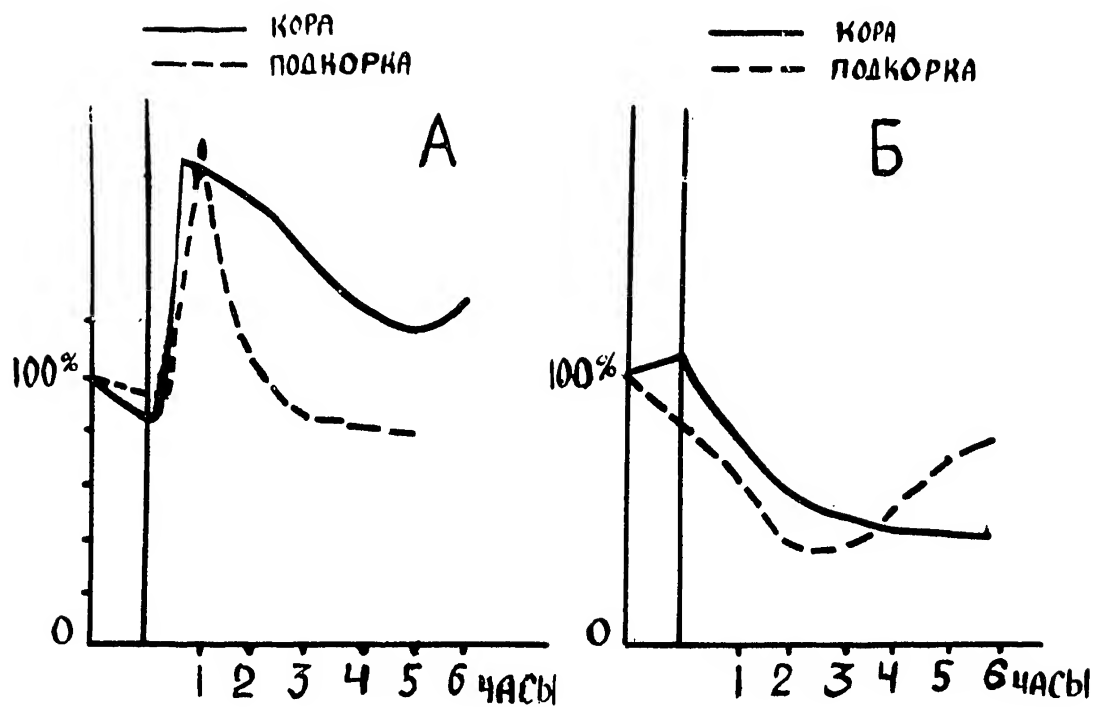


Рис.9. Изменения утилизации кислорода в коре: сплошная линия - в подкорке, пунктирная - при облучении головы (А) и облучении живота (Б).



Рис. 10. Изменение характера кислородных ритмов в коре и подкорке на разные сроки после облучения. С левой стороны - А - кора, с правой стороны - Б - подкорка: первая кривая - норма; вторая - через 10 минут после облучения; третья - через 1 час; четвертая - через 3 часа; пятая - через 6 часов; шестая - через сутки.

-31-

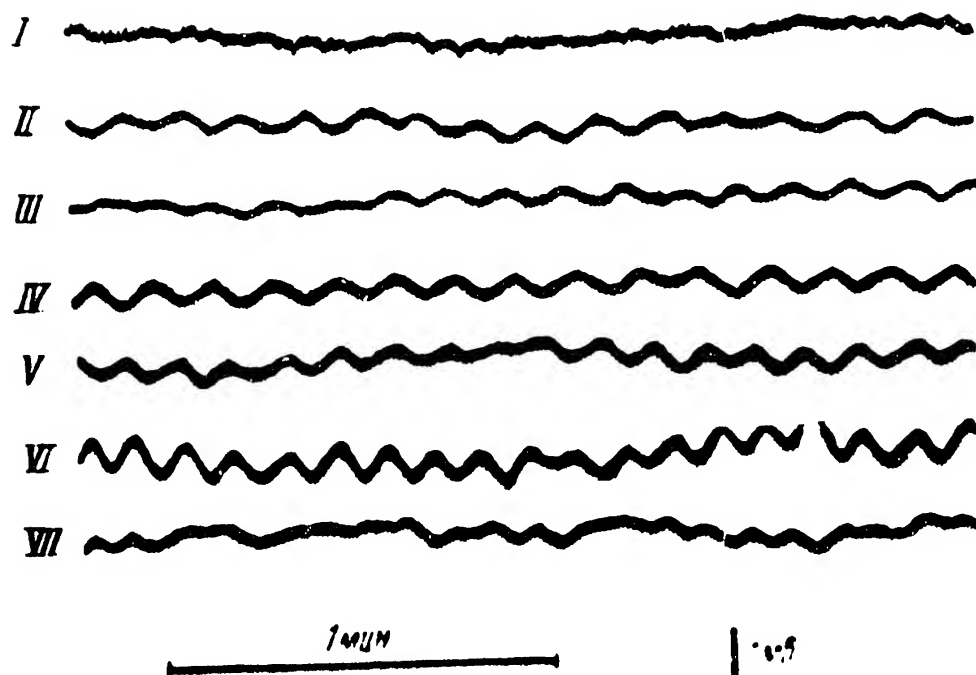


Рис. 11. Инфрамедленные ритмические колебания потенциала во фронтальной области коры мозга кролика при тотальном облучении дозой 100 р :
 I - до облучения; II - через 7 минут после облучения; III - через 2 часа; IV - через 4 часа; V - на 2 сутки; VI - на 4-е сутки; VII - через 10 суток после облучения.

-32-

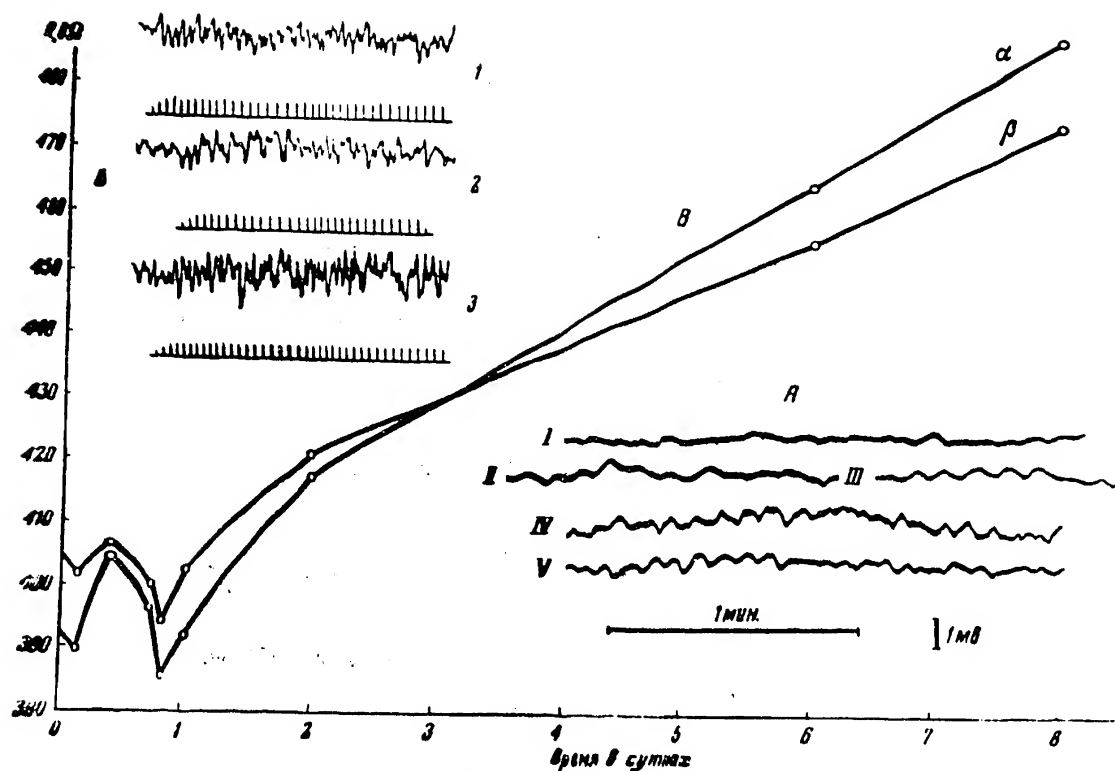


Рис. 12. Сопоставление инфрамедленных колебаний потенциала коры мозга кролика (А), электрической реакции зрительной коры на раздражение рецептора (Б) и импеданса коры мозга (В) при облучении брюшной области дозой в 1000 р : I - до облучения; II - через 7 минут после облучения; III - через 4 часа; IV - на 2-е сутки; V - на 5-е сутки после облучения; фронтальная область; 1 - до облучения; реакция в зрительной коре возникает на каждую вспышку света; 2 - через 4 часа после облучения; реакция лишь на каждую вторую вспышку; 3 - на 5-е сутки, повышенная реакция на каждую вспышку, внизу - отметка световых вспышек; α - омическое сопротивление в затылочной области; β - омическое сопротивление во фронтальной области (по оси абсцисс - время от начала облучения).

-33-

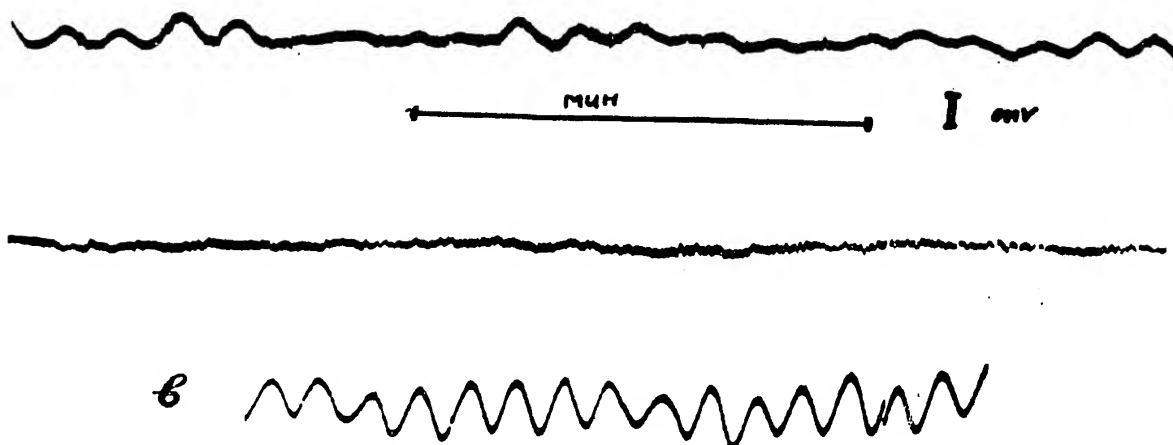


Рис.13. Депрессия и усиление инфрамедленных колебаний потенциала коры мозга на разных сроках после облучения головы дозой 1000p ; I - до облучения, фронтальная область; II - через 5 минут после облучения, III - через сутки